

ANALISIS PROFIL PROTEIN PADA TAHAP PERKEMBANGAN BUAH KACANG TANAH (*Arachis hypogaea* (L.))

Sulistiono¹, Issirep Sumardi², Azis Purwantoro³

¹ Program Studi Pendidikan Biologi Universitas Nusantara PGRI Kediri

² Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

³ Fakultas Pertanian Universitas Gadjah Mada Yogyakarta

Email: listio_biounp@yahoo.co.id

ABSTRAK

Perkembangan buah kacang tanah hanya terjadi di dalam tanah. Organ yang membawa buah masuk ke dalam tanah adalah ginofor yang terbentuk setelah fertilisasi terjadi. Apabila buah tidak masuk ke dalam tanah maka, embrio, biji dan buah kacang tanah tidak dapat berkembang. Setiap tahap dari perkembangan tumbuhan dipengaruhi oleh protein spesifik. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil protein pada setiap tahap perkembangan buah kacang tanah. Analisis profil protein dilakukan pada beberapa tahap perkembangan buah yaitu pada umur 0, 4, 6, 15, 18 dan 23 hari setelah anthesis (hsa), baik pada buah yang berkembang (masuk ke dalam tanah) maupun tidak berkembang (tidak masuk ke dalam tanah), serta akar, batang dan daun menggunakan metode SDS-PAGE (*sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis*). Profil protein pada buah berbeda dengan profil protein pada akar, batang dan daun. Protein dengan berat molekul 124 kDa kemungkinan berperan dalam mengontrol perkembangan buah kacang tanah.

Kata kunci: *Arachis hypogaea*, profil protein, perkembangan buah

PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Organ reproduksi kacang tanah (*Arachis hypogaea* (L.) Merr.) dan jenis lainnya dari marga *Arachis* memperlihatkan perkembangan yang agak berbeda apabila dibandingkan dengan marga-marga yang lain dari suku Fabaceae. Perbedaan tersebut terletak pada perkembangan buah dan embrio yang terjadi di dalam tanah.

Pada tanaman kacang tanah, setelah terjadi fertilisasi terbentuk organ khusus yang dinamakan ginofor. Ginofor tersebut tumbuh memanjang dan membawa buah, biji dan embrio masuk ke dalam tanah. Apabila ginofor tidak masuk ke dalam tanah, buah, biji dan embrio tidak dapat berkembang (Patte & Mohapatra, 1987; Moctezuma & Feldman, 1998).

Beberapa gen dan protein yang bertanggung jawab pada tahap tertentu dari perkembangan tumbuhan telah berhasil diidentifikasi. Gen *FBP* (*Flower Binding Protein*) –11 misalnya, bertanggung jawab dalam perkembangan biji (Collombo, *et al.*, 1995), gen *RHG* (*Root and Shoot Gravitropism*) bertanggung jawab dalam gravitropisme pada akar dan hipokotil (Fukaki, *et al.*, 1997), gen *SAUR* (*Small Auxin-Up RNA*) yang mengkode sintesis protein dengan berat molekul (BM) 9-10 kDa bertanggung jawab pada pembelahan dan pemanjangan sel pada organ yang sedang tumbuh dan yang mengalami perubahan arah pertumbuhan (Gee *et al.*, 1991; Li *et al.*, 1994). Gen *SAUR* tersebut berperan sebagai promotor yang selanjutnya mengaktifkan gen-gen lain dalam mensintesis protein, seperti protein siklin yang bertanggung jawab dalam pembelahan sel (Fukuda *et al.*, 1994; Taiz & Zeiger, 1998) dan ekspansin, salah satu protein yang paling berperan dalam pemanjangan sel (Cosgrove, 1998; Zang & Hasenstein, 2000).

Eksresi suatu gen selain dipengaruhi oleh faktor dari dalam sel juga dipengaruhi oleh lingkungan, seperti cahaya, nutrisi, air, pH, logam berat dan lain-lain. Gen yang mengontrol pemasakan buah pisang misalnya, dipengaruhi oleh cahaya (Clendennen & May, 1997). Eksresi gen *SAUR* yang mengontrol pemanjangan hipokotil kedelai (Gee *et al.*, 1991) dan tropisme pada tembakau (Li *et al.*, 1991) dipengaruhi oleh auksin eksogen dan cahaya. Buah kacang tanah yang tidak dapat tumbuh dan berkembang bila tidak masuk ke dalam tanah kemungkinan disebabkan oleh kondisi lingkungan yang tidak mendukung, sehingga pembentukan protein yang mengontrol perkembangan buah tersebut terganggu atau tidak terbentuk sama sekali. Dari penelitian-penelitian sebelumnya tentang kacang tanah belum diperoleh informasi tentang profil protein pada setiap tahap perkembangan buah kacang tanah.

Rumusan masalah

Bagaimanakah profil protein pada tahap perkembangan buah kacang tanah?

Tujuan Penelitian

Untuk mengetahui profil protein pada tahap perkembangan buah kacang tanah.



Manfaat Penelitian

Arah pertumbuhan ginofor yang berubah-ubah selama pertumbuhannya serta perkembangan buah kacang tanah yang hanya terjadi di dalam tanah merupakan fenomena alam yang masih belum banyak diketahui mekanismenya. Dari hasil penelitian ini diharapkan dapat menjelaskan fenomena tersebut serta dapat memperluas kasanah ilmu pengetahuan, khususnya dalam bidang fisiologi dan perkembangan tumbuhan.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan Penelitian

Penanaman: Benih kacang tanah (*Arachis hypogaea* (L.). Merr.) varitas Kelinci, pot plastik warna hitam dengan diameter 40 cm, tanah, pasir, pupuk kandang, dan pupuk NPK

Ekstraksi protein: penggerus, lemari pendingin (-80°C), pemusing, tabung *Eppendorf*, N_2 cair, 50 mM Tris HCl pH 8, *dimethylformamide* dan 0,1 mM *phenylmethylsulfonyl fluoride* (PMSF) sebagai protease inhibitor.

Gel elektroforesis: protein standar (Bio-Rad) (lampiran 3); larutan *stacking gel* 3% (0.9 g akrilamid, 0.024 g bis-akrilamid, 2.52 ml 1.5 mM tris HCl pH 6.8 dan 17.18 ml H_2O); larutan gel 15% (1.8 g akrilamid, 0.048 g bis-akrilamid, 3 ml 1.5 mM tris HCl pH 8.8, 0.12 ml 10% SDS (*sodium dodecyl sulphate*), 8.88 ml H_2O , 5 μl TEMED (*tetramethylen diamine*) dan 50 μl APS (*amonium persulphate*)); larutan sampel bufer (2,5 ml 1,5M Tris HCl pH 6,8, 2 g SDS, 0,5 g DDT, 10 mg *bromophenol blue*, 10 ml gliserin, dan ditambahkan H_2O hingga volume menjadi 20 ml); larutan dapar elektroda (3.03 g, 2.5 mM Tris, 14.4 g 192 mM glisin, 10 ml 15% SDS pH 8.3, lalu ditambah H_2O sampai 1 liter); larutan gel tempat sisir (3 ml larutan *stacking gel* 3%, 3 μl TEMED dan 25 μl APS), pewarna *coomassie brilliant blue* 0.1 % (0,1 g *coomassie brilliant blue* dilarutkan dalam 100 ml larutan *destainier*) dan larutan *destainer* (metanol 0.5 l, asam asetat glasial 100 ml dan akuades 400 ml).

Prosedur Penelitian

Analisis profil protein dilakukan dengan metode SDS-PAGE (*sodium dodecyl sulphate-polyacrylamide gel electrophoresis*) menurut Hu (1996). Jumlah sampel yang dimasukkan ke dalam sumuran gel disesuaikan dengan kandungan protein untuk masing-masing sampel, yaitu sebanyak 50 μg / μl sampel. Kandungan protein sampel tersebut diukur menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 595 nm.

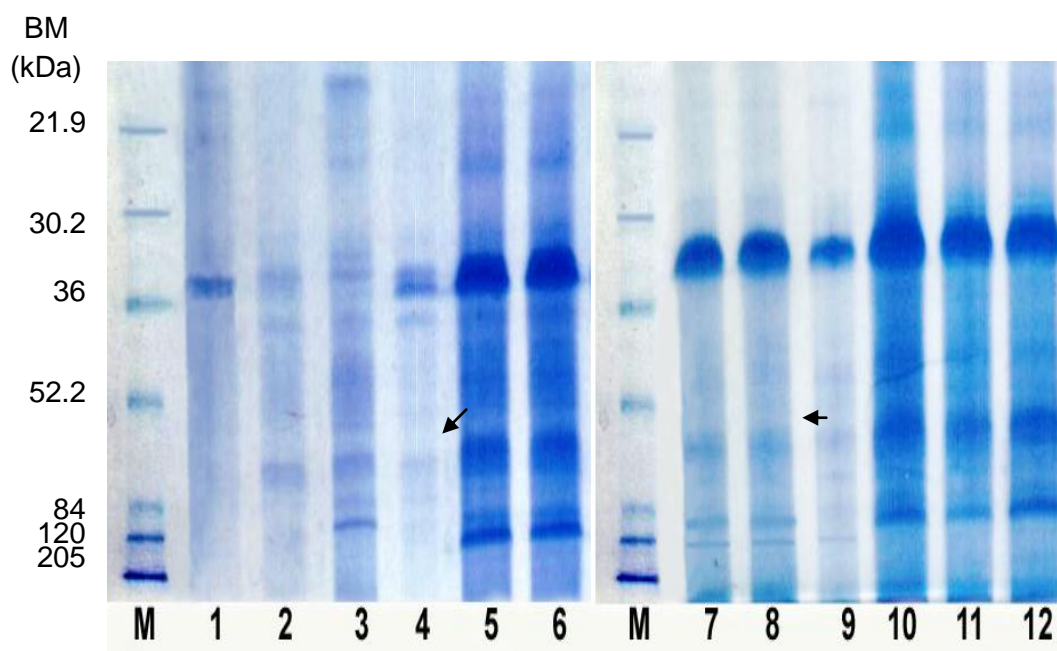
Untuk mendeteksi protein spesifik yang mungkin berperan dalam mengontrol perkembangan buah dilakukan dengan cara membandingkan profil protein buah yang berkembang dan tidak berkembang, serta dengan akar, batang dan daun. Analisis dilakukan pada beberapa tahap perkembangan buah yang berbeda, yaitu pada umur 0, 4, 6, 15, 18 dan 23 hsa, baik pada buah yang berkembang (masuk ke dalam tanah) maupun tidak berkembang (tidak masuk ke dalam tanah).

Berat molekul (BM) protein sampel pada tiap jarak migrasi diketahui dengan cara mengekstrapolasikan tiap jarak pita protein sampel yang dikehendaki pada jarak migrasi 2 pita protein marker yang mengapit pita protein sampel yang dimaksud, sehingga dapat diperoleh log BM. Dengan diperolehnya log BM, maka BM pita protein yang dimaksud dapat diketahui (Bustami, 2006).

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Pada kacang tanah profil protein buah berbeda dengan profil protein akar, batang dan daun (Gambar 1.). Hal ini menunjukkan adanya perbedaan gen yang mengontrol perkembangan akar, batang, daun dan buah kacang tanah tersebut. Dalam Fosket (1994) ditunjukkan, bahwa jumlah dan jenis gen yang terekspresi pada tumbuhan tergantung pada jenis dan tingkat perkembangan organ dari tumbuhan tersebut.





Gambar 1. Profil protein akar, batang, daun serta buah kacang tanah yang berkembang dan tidak berkembang. M = Marker; 1= akar; 2 = batang ; 3 = daun; 4 – 6 berturut-turut = buah berumur 0, 4 dan 6 hsa; 7 – 9 berturut-turut = buah berkembang umur 15, 18 dan 23 hsa; 10 – 12 berturut-turut = buah tidak berkembang umur 15, 18 dan 23 hsa.

Menurut Howell (2000), ekspresi gen-gen yang mengontrol perkembangan buah sebagian besar dipacu oleh adanya polinasi dan atau fertilisasi. Hal ini yang menyebabkan jumlah pita protein pada bakal buah (saat antesis) (lajur 4) lebih sedikit dari pada pita protein setelah fertilisasi terjadi (lajur 6 dan seterusnya). Beberapa gen di dalam bakal buah yang telah aktif sebelum fertilisasi terjadi antara lain adalah gen yang mengendalikan pembentukan bakal buah dan bakal biji (Colombo *et al.*, 1998) serta gen-gen yang mengendalikan megasporogenesis dan megagametogenesis (Raghavan, 1997).

Pita protein yang terbentuk pada buah yang tidak berkembang sejak umur 4 hsa sampai umur 23 hsa tidak mengalami perubahan (lajur 5, 6, 10, 11 dan 12), karena kulit buah, biji dan embrio pada buah tersebut juga tidak berkembang. Hal ini sesuai dengan pernyataan Gillaspay *et al.* (1993) dan Raghavan (1997), bahwa gen-gen yang terekspresi pada buah dan embrio tergantung pada tingkat perkembangan buah dan embrio tersebut.

Protein dengan berat molekul (BM) 124 kDa merupakan salah satu protein yang berperan penting dalam perkembangan buah kacang tanah, karena hanya terdapat pada buah yang berkembang, serta tidak terdapat pada buah yang tidak berkembang, akar, batang dan daun. Protein tersebut kemungkinan adalah fitokrom, yaitu salah satu protein fotoreseptor yang berperan penting pada perkembangan tumbuhan. Dugaan ini didasarkan pada hasil penelitian Thompson *et al.*, (1992), bahwa pada buah kacang tanah yang ditumbuhkan dalam keadaan gelap terdeteksi adanya fitokrom (BM 124 kDa) di dalam sel-sel kulit buah, kulit biji dan embrio, tetapi tidak ditemukan pada buah yang ditumbuhkan dalam keadaan terang. Pernyataan Fosket (1994) dan Taiz & Zeiger (1998), bahwa sebagian besar fitokrom pada tumbuhan disintesis dalam keadaan gelap lebih memperkuat bahwa protein dengan BM 124 kDa yang ditemukan dalam penelitian ini adalah fitokrom, karena perkembangan buah yang terjadi di dalam tanah berada dalam keadaan gelap.

Di dalam tumbuhan, fitokrom terdapat dalam dua bentuk, yaitu yang menyerap sinar merah (Pr) merupakan bentuk tidak aktif dan kedua menyerap sinar merah jauh (Pfr) merupakan bentuk aktif.

Fitokrom dalam bentuk Pr akan berubah menjadi Pfr apabila menyerap sinar merah, dan sebaliknya bentuk Pfr akan berubah menjadi Pr apabila menyerap sinar merah jauh (Fosket, 1994; Taiz & Zeiger, 1998; Howell, 2000). Jika protein dengan BM 124 kDa dalam penelitian ini adalah benar fitokrom, maka fitokrom tersebut berada dalam bentuk aktif (Pfr), karena dapat memacu perkembangan buah.

Protein dengan BM sekitar 34 kDa terdapat pada akar, batang, daun serta pada buah yang berkembang maupun tidak berkembang. Meskipun protein tersebut tidak hanya terekspresi pada buah, namun berdasarkan ketebalan pita protein yang terbentuk, kandungannya di dalam buah paling tinggi

dibandingkan dengan protein lainnya. Protein tersebut kemungkinan adalah *arachin*, yaitu protein spesifik pada marga *Arachis*. Beberapa marga yang lain dari suku *Fabaceae* juga mempunyai protein spesifik, seperti *phaseolin* pada marga *Phaseolus* dan *glycinin* pada marga *Glycine* (Raghavan, 1997).

SIMPULAN

1. Profil protein pada buah berbeda dengan profil protein pada akar, batang dan daun.
2. Profil protein pada buah berkembang berbeda dengan buah tidak berkembang.
3. Protein dengan berat molekul 124 kDa kemungkinan berperan dalam mengontrol perkembangan buah kacang tanah.

DAFTAR PUSTAKA

- Bustami, M.U. (2006). *Identifikasi Protein Penanda Kemampuan Induksi Kalus Tusam (Pinus merkusii Jungh et de Vriese)*. (Tesis Pascasarjana). Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. p.28 – 34.
- Clendennen, S.K. & May, G.D. (1997). Differential Gene Expression in Ripening Banana Fruit. *Plant Physiol.* 115: 463-469.
- Colombo, L., Franken, J., Koetje, E., Went, J.V., Dons, H. J. M. & Angenent, G. C. (1995). The Petunia MADS Box Gene FBP11 Determines Ovule Identity. *Am. S. Plant. Phy.* 7: 1859 – 1868.
- Cosgrove, D.J. (1997). Relaxation in a High-Stress Environment. The Molecular Bases of Extensible Cells Walls and Cell Enlargement. *Plant Cell.* 9: 1031-1041.
- Fosket, D.E. (1994). *Plant Growth and Development. A Molecular Approach*. Academic Press. New York-London-Sydney. p. 396-440.
- Fukaki, H., Fujisawa, H. & Tasaka, M. (1997). The RGH Gene is Involved in Root and Hypocotyl Gravitropism in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Physiol.* 38 (7): 804-810.
- Fukuda, H., Ito, M., Sugiyama, M. & Komamine, A. (1994). Mechanism and Differentiation of Plant Cell Culture System. *Int. J. Dev. Biol.* 38: 287 – 299.
- Gee, M.A., Hagen, G. & Guilfoyle, T.J. (1991). Tissue-Specific and Organ-Specific Expression of Soybean Auxin-Responsive Transkripts GH3 and SAURs. *The Plant Cell.* 3: 419-430.
- Howel, S. H. 2000. *Molecular Genetics of Plant Development*. Chambridge University Press. p. 263 – 285.
- Hu, Z.L. (1996). *Protein Electrophoresis. In: Practical Protocols in Molecular Biology*. Eds. Li, Y. & Zhao, Y. Science Press. Beijing-New York. p. 235-243.
- Li, Y., Hagen, G. & Guilfoyle, T.J. (1991). Auxin-Responsive Promoter is Differentially Induced by Auxin Gradients during Tropism. *The Plant Cell.* 3: 1167-1176.
- Li, Y., Liu, Z.B., Shi, X., Hagen, G. & Guilfoyle, T.J. (1994). An Auxin Inducible Element in Soybean SAUR Promoters. *Plant Physiol.* 106: 37-43.
- Maesen, L.J.S.V. & Somaatmaja, S. (1993). *Sumber Daya Nabati Asia Tenggara I: Kacang-kacangan (terjemahan)*. PT. Gramedia. Jakarta. p. 25-42.
- Moctezuma, E & Feldman, L.J. (1998). Growth Rates and Auxin Effect in Graviresponding Gynophores of Peanut, *Arachis hypogaea* (Fabaceae). *Am. J. Bot.* 43: 1369 - 1376.
- Patte, H.E. & Mohapatra, S.C. (1987). Anatomical change during Ontogeny of the Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Fruit: Mature Megagametophyte through Heart-Shaped Embryo. *Bot. Gaz.* 148: 156 - 164.
- Raghavan, V. (1997). *Molecular Embryology of Flowering Plants*. Cambridge University Press. Cambridge. p. 357-393.
- Taiz, L. & Zeiger, E. (1998). *Plant Physiology*. Sinauer Associates, Inc. Publishers: Sunderland. p. 31-574.
- Thompson, L.K., Burgess, C.L. & Skinner, E. (1992). Localization of Phytochrome during Peanut (*Arachis hypogaea*) Gynophore and Ovule Development. *Am. J. Bot.* 79: 828 – 832.
- Zhang, N. & Hasenstein, K.H. (2000). Distribution of Expansins in Graviresponding Maize Roots. *Plant Cell Physiol.* 41 (12):1305-1312.

DISKUSI

Saran dari Erma Prihastanti - Jurusan Biologi Fak. Sains dan matematika Univ Diponegoro

Banyak penelitian tentang DNA hanya untuk mengetahui data base, maupun untuk mengetahui pita DNA nya saja atau yang lainnya, tetapi kita juga harus membumi maksudnya dari penelitian yang kita lakukan haruslah dapat diaplikasikan.

Tanggapan:

Pada skala laboratorium telah dicoba dan meningkatkan produktivitas sebanyak 300% pada panen kedua dan ketiga, tetapi saat diaplikasikan ke lapangan para petani tidak bersedia karena panennya merupakan panen tanam cabut.

